Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 4, Winter 2024, p. 675-692

Biochemical and Physiological Responses of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Plant to Heavy Metal Stress in Urban Areas

K. Poorhossein[1], B. Abedy[2*], M. Shoor[2]

1 and 2- M.Sc. Graduate and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively
(*- Corresponding Author Email: abedy@um.ac.ir)

Received: 01-05-2024 Revised: 09-06-2024 Accepted: 09-06-2024 Available Online: 09-06-2024	**How to cite this article:** Poorhossein, K., Abedy, B., & Shoor, M. (2024). Biochemical and physiological responses of peppermint (*Mentha piperita* L.) plant to heavy metal stress in urban areas. *Journal of Horticultural Science*, *38*(4), 675-692. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87813.1341

Introduction

Urban agriculture, as one of the basic features of urban planning, helps to increase the quality of urban life due to its cultural, economic and social benefits. However, pollution with heavy metals in cities causes the accumulation of these metals in different parts of planted plants and also the risk of consuming them for food in urban green spaces.

Materials and Methods

This study was conducted to assess the amount of heavy metal absorption and its effect on some biochemical and physiological properties of peppermint plant (*Mentha piperita* L.), in Mashhad city in 2021.The experiment was carried out as a factorial based on randomized complete block design with three replications. The first factor (location) were phase 4 Park (with high degree of contamination) and Nasim Park (with low degree of contamination). The second factor was the times of harvest (June15, July15 and August 15). At the time of every harvest fully developed leaves were collected to evaluate the traits.

Results and Discussion

The results of analysis of variance indicated that the effect of location was significant on all traits except for the yield of essential oil. Also, the effect of harvest time was significant on all traits except for peroxidase activity and the yield of essential oil. However, the interaction of location and harvest was significant only on phenol, flavonoid, proline, cadmium and lead concentration. The results indicated that the ascorbate peroxidase, catalase and peroxidase activities were higher in phase 4 Park. Moreover, the highest activities of ascorbate peroxidase, catalase and peroxidase were recorded in phase 4 + first harvest. Heavy metals cause the production of reactive free radicals and also increase the activity of antioxidant enzymes. However, the chlorophyll a, b, carotenoid and total chlorophyll contents were higher in Nasim. Thus, the highest contents of Chl_a, Chl_b, Chl_{total} and carotenoid were observed in Nasim + first harvest. The higher amount of chlorophyll and carotenoids in the first harvest is due to the optimal growth conditions such as day length and sunlight and ambient temperature. In addition, total phenol, flavonoid, proline, Cd and Pb elements indicated a reducing trend in phase 4 compared to Nasim Park in different harvest times, but the amount of these traits were higher in the first harvest than in the subsequent harvests. Increased amount of total phenol in the first harvest can be related to the high air temperature at the first harvest which caused stressful conditions in this stage. Proline production also increases under heavy metal stress to help protect the plant against toxicity. However, the percentage of essential oil showed an increasing trend with enhanced absorption of Pb and Cd in phase 4 compared to Nasim Park. The higher percentage of essential oil in phase 4 may be attributed to reduced leaf growth due to the higher presence of heavy metals in that area. Overall, while the concentration of Pb exceeded the global standard level in both parks, contamination with Cd and Pb (especially Pb) was greater in phase 4 than in Nasim Park, contributing to reduced growth traits in peppermint plants. Regarding



https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87813.1341

harvest times, the first harvest exhibited better growth characteristics and higher absorption of heavy metals due to the plant's greater vigor. In contrast, the third harvest showed lower growth characteristics and weaker absorption of Pb and Cd, likely due to the energy expended for regrowth.

Keywords: Antioxidant enzymes, Cadmium, Green space, Growth traits, Lead

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ٤، زمستان ۱٤۰۳، ص. ٦٩٢-٦٧٥

پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) به تنش فلزات سنگین در محیط‌های شهری

کیوان پورحسین[۱] - بهرام عابدی[۲*] - محمود شور[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰

چکیده

کشاورزی شهری به‌عنوان یکی از ویژگی‌های اساسی برنامه‌ریزی شهری، به‌علت داشتن مزایای فرهنگی، اقتصادی و اجتماعی به افزایش کیفیت زندگی شهری کمک می‌کند. بااین‌حال، آلودگی به فلزات سنگین در شهرها موجب تجمع این فلزات در قسمت‌های مختلف گیاهان کاشته شده و نیز خطر مصرف خوراکی آن‌ها را در فضای سبز شهری در پی خواهد داشت. این تحقیق به‌منظور ارزیابی میزان جذب عناصر سرب و کادمیوم و تأثیر آن روی برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) در دو بوستان از فضای سبز شهری منطقه نُه مشهد (بوستان فاز چهار کلانتری و بوستان نسیم) اجرا گردید. این گیاه که به‌عنوان یک گیاه پوششی دارای رشد سریع است که علی‌رغم زیبایی در شکل برگ‌ها و ایجاد رایحه مطبوع برای مخاطبان بوستان‌ها، توانایی تولید محصول را نیز به‌صورت اقتصادی دارد، به‌عنوان گیاه هدف انتخاب شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار شکل گرفت. عامل اول مکان، که دو بوستان فاز چهار کلانتری (به‌عنوان منطقه با درجه آلودگی بالاتر) و نسیم (به‌عنوان منطقه با درجه آلودگی کم‌تر) با توجه به آنالیز خاک، در نظر گرفته شدند. عامل دوم نیز زمان برداشت (۱۵ خرداد، ۱۵ تیر و ۱۵ مرداد) در نظر گرفته شد. نتایج حاکی از آن بود که در بوستان فاز چهار، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز بالاتر بود. از سوی دیگر، محتویات غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئید و کلروفیل کل در بوستان نسیم بالاتر بود. علاوه‌براین، در بوستان فاز چهار نسبت به بوستان نسیم در زمان برداشت، محتوای فنل کل، فلاونوئید، پرولین، غلظت عناصر کادمیوم و سرب روند کاهشی داشت، امّا میزان این صفات در برداشت اول نسبت به برداشت‌های بعدی بیشتر بود. درصد اسانس نیز با افزایش جذب عناصر سرب و کادمیوم در بوستان فاز چهار نسبت به بوستان نسیم روند افزایشی نشان داد. به‌طور کلی، می‌توان بیان داشت که آلودگی به فلزات سنگین سرب و کادمیوم در بوستان فاز چهار نسبت به بوستان نسیم بیشتر بود که خود عاملی در جهت کاهش خصوصیات رشدی گیاه نعنا فلفلی گردید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، خصوصیات رشدی، سرب، فضای سبز، کادمیوم

مقدمه

کشاورزی شهری، یکی از ویژگی‌های اساسی برنامه‌ریزی شهری (Antisari *et al*., 2015) بوده که به افزایش کیفیت زندگی شهری از طریق کاهش آلودگی آب‌وهوای شهر، حفظ و افزایش تنوع زیستی و همچنین استفاده مجدد از زباله‌های شهری کمک می‌کند (La Greca *et al*., 2011). طبق پیش‌بینی‌های سازمان ملل، بیش از ۶۵ درصد از جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ در مراکز شهری قرار خواهند گرفت. ازاین‌رو، رژیم غذایی سالم برای بسیاری از ساکنان شهری به‌دلیل درآمد محدود، افزایش هزینه‌های غذا و دسترسی ناعادلانه به غذاهای سالم از نظر فرهنگی محدود می‌گردد (United Nations, 2018). به همین دلیل طی چند سال اخیر، کشاورزی شهری به‌دلیل مزایای اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی آن اهمیت قابل توجهی یافته است (Montaño López & Biswas, 2021). بااین‌وجود، مطالعات نشان داده‌اند که خاک‌های شهری می‌توانند دارای غلظت بالایی از عناصر کمیاب خاص باشند (Heidary Monfared, 2011). آلودگی خاک شهری توسط فلزات سنگین در این مناطق بسیار نگران‌کننده است، زیرا ممکن است خطر بالقوه‌ای برای سلامتی انسان داشته باشند (He *et al*., 2015). به‌طور کلی، فلزات سنگین توسط گیاه از

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(* نویسنده مسئول: Email: Abedy@um.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87813.1341

محلول خاک جذب شده (Sarwar *et al*., 2010) و در بافت‌های ریشه تجمع یافته یا به بخش‌های هوایی گیاه منتقل می‌شوند (Sarwar *et al*., 2017). همچنین، فلزات سنگین مانند آهن، کادمیوم، سرب، مس، کروم، نیکل، روی و منگنز از آلیاژ، لاستیک‌ها و لوله‌های وسایل نقلیه به محیط اطراف جاده آزاد می‌شوند (Osman, 2018). فلزات سنگین سمی مانند سرب و کادمیوم به‌دلیل عدم تجزیه زیستی، در موجودات زنده انباشته شده و متعاقباً باعث ایجاد بیماری‌ها و اختلالات مختلف حتی در غلظت‌های نسبتاً پایین‌تر می‌گردند (Pahlavan Rad *et al*., 2009). آلودگی سرب و کادمیوم در گیاهان موجب توقف رشد، کاهش طول ریشه، تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی، کاهش محتوای آب، اختلال در تغذیه معدنی و در نتیجه، کاهش عملکرد گیاه می‌گردد (Zhao *et al*., 2021) و با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را مختل کند (Gallego & Benavides, 2019).

نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.)، از تیره نعناییان (*Lamiaceae*) است. اسانس این گیاه به‌دلیل خصوصیات ضدعفونی‌کنندگی می‌تواند به بهبود سردرد سینوزیتی و جلوگیری از پوسیدگی دندان کمک کند (McKay & Bumberg, 2006). سطوح بالای فلزات سنگین باعث ایجاد کلروز و نکروز، افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و همچنین تنش اکسیداتیو در گیاهان نعنا می‌گردد (Gupta *et al*., 2019). در تحقیقی با هدف تعیین غلظت فلزات سنگین کادمیوم و سرب در کاهو (*Lactuca sativa* L.)، نعنا (*Mentha spicata* L.) و تره (*Allium iranicum*) کشت شده در اراضی مختلف جنوب تهران، مشاهده شد که میانگین غلظت کادمیوم در سه گیاه در مناطق مورد مطالعه معنی‌دار بوده است، بااین‌حال در مورد سرب اختلاف معناداری مشاهده نگردید (Giviand *et al*., 2011).

گیاهان مانند سایر موجودات دارای سازوکار دفاعی هستند که در شرایط تنش فعال می‌شوند تا بتوانند زنده بمانند. بدین صورت که تحت تنش، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله سوپراکسیددسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز، و متابولیت‌های غیرآنزیمی مانند کاروتنوئید، ترکیبات فنلی و فلاونوئید و پرولین افزایش می‌یابد (De Pinto & De Gara, 2004). مشخص شده است که خطر انباشته شدن آلاینده‌ها در هوا، خاک و آب می‌تواند بر کیفیت و سلامت محصول تأثیر بگذارد (Leake *et al*., 2009). ازاین‌رو، اتحادیه اروپا حداکثر سطوح سرب (کمتر از ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر به‌ترتیب در حبوبات، خانواده Brassicaceae و همه سبزیجات) و کادمیوم (کمتر از ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر به‌ترتیب در میوه، ساقه/ریشه و برگ سبزیجات) را تعریف کرده است (Antisari *et al*., 2015). مطالعه حاضر در مقیاس منطقه‌ای، به‌منظور بررسی آلودگی فلزات سنگین و تعیین اثرات آن‌ها بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و همچنین غلظت کادمیوم و سرب در گیاه نعنا فلفلی کشت شده در فضای سبز شهری انجام شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات طرح و محل آزمایش

این مطالعه به‌منظور ارزیابی میزان جذب فلزات سنگین و تأثیر آن روی برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه نعنا فلفلی در شهرستان مشهد طی سال ۱۴۰۱ انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. بدین منظور، در هر آدرس سه پلات به ابعاد ۱۰۰×۷۰ با فاصله حداقل پنج متر از هم در نظر گرفته شد و سپس در پنجم اردیبهشت ماه نسبت به کاشت ریزوم‌ها به فواصل ۲۰ سانتی‌متر از هم اقدام گردید. عامل اول شامل دو لکه فضای سبز در منطقه نُه شهرداری مشهد، بوستان فاز چهار کلانتری (با طول و عرض جغرافیایی به‌ترتیب '۵۴-۵۹ و '۲۹-۳۶) با درجه آلودگی بالا و بوستان نسیم (با طول و عرض جغرافیایی به‌ترتیب '۳۲-۵۹ و '۱۷-۳۶) با درجه آلودگی کم، در نظر گرفته شد. داده‌های مربوط به میزان آلودگی فلزات سرب و کادمیوم دو منطقه مذکور در جدول آنالیز خاک آمده است (جدول ۱). عامل دوم نیز شامل زمان برداشت (۱۵ خرداد، ۱۵ تیر و ۱۵ مرداد) بود، به‌طوری‌که در زمان برداشت اول ۴۰ روز از کاشت ریزوم‌ها گذشته بود. آبیاری به‌روش رایج و با آب شهری به‌صورت شلنگی انجام شد و سعی گردید که شرایط نگهداری یکسانی برای گیاه در نظر گرفته شود. در هر زمان برداشت، از جوان‌ترین برگ‌های توسعه یافته جهت بررسی صفات رویشی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و غلظت عناصر کادمیوم و سرب استفاده شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت کاتالاز (EC 1.11.1.6) مطابق با روش ولیکوا و همکاران (Velikova *et al*., 2000) ارزیابی شد. میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در یک دقیقه و میکرومول هیدروژن پراکسید مصرف شده در دقیقه به‌عنوان یک واحد کاتالاز تعریف می‌شود (ضریب خاموشی ۴۰ میلی‌مولار در سانتی‌متر).

فعالیت گایاکول پراکسیداز (EC 1.11.1.7) براساس روش اسرینیواس و همکاران (Srinivas *et al*., 1999) براساس شکل‌گیری تتراگایاکول با جذب در۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت پراکسیداز نشان‌دهنده فعالیت آنزیم که یک میکرومول گایاکول را در یک دقیقه اکسید کند، تعریف می‌شود.

جدول ۱- آنالیز خاک بوستان فاز چهار و نسیم براساس غلظت عناصر سنگین سرب و کادمیوم

Table 1- Soil analysis of phase 4 and Nasim based on the concentration of lead and cadmium heavy

بلوک ۱ Block 1	کادمیوم Cadmium (mg.kg^{-1})		سرب Lead (mg.kg^{-1})	
	بوستان فاز چهار Phase 4 park	بوستان نسیم Nasim park	بوستان فاز چهار Phase 4 park	بوستان نسیم Nasim park
	0.814	0.612	193	96
بلوک ۲ Block 2	0.993	0.619	189	92
بلوک ۳ Block 3	0.921	0.657	191	91
میانگین Average	0.889	0.629	191	93

فعالیت آسکوربات پراکسیداز (EC 1.11.1.11) مطابق روش یاماگوچی و همکاران (Yamaguchi *et al.*, 1995) اندازه‌گیری شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز وابسته به کاهش میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر اکسیداسیون آسکوربات است (ضریب خاموشی ۲/۸ میلی‌مولار در سانتی‌متر).

اندازه‌گیری محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه

جهت استخراج رنگدانه‌های فتوسنتزی، ۱۰۰ میلی‌گرم برگ تازه بـا استون ۸۰ درصد مخلوط شـد. میـزان جـذب بـا اسـتفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۴۷۰،۶۴۸ و ۶۶۴ نـانومتر ثبت شـد. براساس معادله‌های زیر غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئید محاسبه گردید (Arnon, 1949).

$Chl_a=13.36\times A664-5.19\times A648$ (۱)

$Chl_b=27.43\ A648-8.12\ A664$ (۲)

$C(x+c)=(1000\times A470-2.13\times Ca-97.64\times Cb)/209$ (۳)

بررسی صفات بیوشیمیایی

مقدار فنل کل (TPC) از روش فـولین سـیکالتو (Singleton *et al.*, 1999) و بـا اسـتفاده از محلـول اسـتاندارد اسـیدگالیک (GLA) اندازه‌گیری شد. مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبـت و سـپس TPC بر حسب میلی‌گرم بر گرم بر وزن‌خشک محاسبه شد.

مقدار فلاونوئید کل (TFC)، با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید ($AlCl_3$) اندازه‌گیری شد. جذب در طول مـوج ۴۱۵ نـانومتر قرائـت و TFC به واحد میلی‌گرم بر گرم بر وزن‌خشک محاسبه شـد (Chang *et al.*, 2002).

برای اندازه‌گیری پرولین (Pro)، از معرف نـاین‌هیـدرین اسـتفاده شد. در این روش، عصاره گیاه تهیه شده با دو میلی لیتر معرف نـاین-هیدرین و اسیداستیک به‌مدت ۳۰ دقیقه واکنش داده و سـپس جـذب فاز رنگی در ۵۲۰ نانومتر قرائت و مقدار پرولین در واحد میلی‌گـرم بـر گرم بر وزن‌خشک گزارش شد (Bates *et al.*, 1973).

اندازه‌گیری اسانس در گیاه

جهت اسانس‌گیری نمونه‌ها، مقدار ۳۰ گرم از نمونه خشک شده و پودر شده را همراه بـا ۲۰۰ میلی‌لیتـر آب مقطـر درون بـالن دسـتگاه کلونجر ریخته و اسانس‌گیری انجام و در نهایت، جهت جداسازی آب از اسانس از سولفات سدیم (Na_2SO_4) استفاده شـد (Singelton & Rossi, 1965). عملکرد اسـانس از حاصل‌ضـرب درصـد اسـانس در عملکرد اندام هوایی براساس معادله ۴ محاسبه شد.

عملکرد اسانس (گرم در مترمربع) = ۱۰۰/(عملکرد اندام هوایی × درصد اسانس) (۴)

اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین در گیاه

برای اندازه‌گیری مقدار سرب و کادمیوم، نمونه‌های گیاهی به‌مدت ۲۴ ساعت در آون (۷۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. سپس ۰/۳ گرم از نمونه خشک شده در ارلن مایر ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و اسیدنیتریک (۶۵ درصد) و اسیدپرکلریک (۷۰ درصد) بـه نسـبت ۵ بـه ۱/۵ بـه آن افزوده شد. نمونه‌ها در حمام آب گـرم (۱۰۰ درجـه سـانتی‌گراد) قـرار گرفتند. در نهایت، میزان فلز با استفاده از دستگاه جذب اتمـی تعیـین شد (Ebrahimpour & Mushrifah, 2008).

تجزیه آماری

داده‌های به‌دست آمده توسـط نـرم‌افـزار SAS (JMPver 13.2) تجزیه و میانگین صفات با آزمون LSD در سطح احتمال پـنج درصـد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که اثر مکان بر همه صفات به‌جز عملکرد اسانس، معنی‌دار بود. همچنین اثر تاریخ برداشت نیز بر همه صفات به‌جز فعالیت پراکسیداز و عملکرد اسانس معنی‌دار بود(جدول ۲-). بااین‌حال، برهم‌کنش مکان و تاریخ برداشت تنها بر فنل، فلاونوئید، پرولین، غلظت کادمیوم و سرب معنی‌دار بود (جدول ۲).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

با توجه به شکل ۱، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بوستان فاز چهار بود، به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۰/۳۸ دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به‌دست آمد. کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت سوم (۰/۱۵ دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) حاصل شد.

مشابه با آنزیم آسکوربات پراکسیداز، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در بوستان فاز چهار بود، به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۰/۲۱ دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به‌دست آمد، هرچند با برداشت دوم تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۰/۰۹ دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) حاصل شد که با برداشت دوم در همین بوستان تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۲).

مطابق با نتایج، بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌ترتیب در بوستان فاز چهار (۰/۶۹ دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و بوستان نسیم (۰/۳۳ دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به‌دست آمد (شکل ۳). بااین‌حال، نتایج نشان داد زمان برداشت در هر مکان تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز نداشتند.

یکی از پاسخ‌های گیاهان در برابر شرایط تنش، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. این آنزیم‌ها با کاهش اثرات منفی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، از پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و نابودی سلول‌های گیاهی جلوگیری می‌کنند (Dumont & Rivoal, 2019). کاهش میزان این آنزیم‌های اکسیدانی در برداشت‌های دوم و سوم نسبت به برداشت اول می‌تواند به این دلیل باشد که در برداشت‌های دوم و سوم گیاه، جذب کمتری از فلزات سنگین توسط گیاه صورت گرفته و به تبع آن در شرایط تنشی کمتری نسبت به برداشت اول قرار داشته است، لذا آثار منفی ناشی از تولید ROS در این شرایط کمتر بوده و به تبع آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تولید شده نیز در سطح کمتری قرار داشتند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با مطالعه صورت گرفته توسط امانی ماچیانی و همکاران (Amani Machiani *et al.*, 2021) در بررسی اثر زمان برداشت بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) مطابقت دارد. در مطالعه‌ای مشاهده شد که تنش کادمیوم باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های CAT،SOD و APX شد که می‌تواند دلیل غیرمستقیمی بر افزایش فعالیت رادیکال-های آزاد تحت تنش کادمیوم باشد (Kavousi & Barandeh, 2016). سوپراکسیددیسموتاز، اولین و مهم‌ترین آنزیم در فرآیند سمیت‌زدایی ترکیبات ROS، با تبدیل رادیکال سوپراکسید به هیدروژن پراکسید، نقش حیاتی در سازوکارهای دفاعی سلول، ایفا می‌کند. هیدروژن پراکسید حاصل، در مرحله بعدی به‌وسیله آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز پاک‌سازی می‌شود (Rajput *et al.*, 2021). در آزمایشی نیز مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش کادمیوم در برگ‌های عدس (*Vicia lens*) افزایش پیدا کرد. القاء فعالیت کاتالاز با جلوگیری از تولید رادیکال‌های هیدروکسیل، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها را در برابر ترکیبات ROS محافظت می‌کند. همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در طول فعالیت سایر آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در پاسخ به عوامل تنش‌زا افزایش می‌یابد (Kavousi & Barandeh, 2016). از طرفی، عنصر کادمیوم احتمالاً با ایجاد رادیکال‌های آزاد واکنش‌پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های‌آنتی‌اکسیدان می‌گردد (Gill & Tuteja, 2010). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش عناصر سنگین در خردل چینی (*Brassica juncea*) و گندم (*Triticum aestivum*) مشاهده شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارند (Irfan *et al.*, 2014; Çatav *et al.*, 2020).

محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه

با توجه به نتایج، بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به‌ترتیب در بوستان نسیم (۱/۹۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و بوستان فاز چهار (۱/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود، هرچند که برداشت‌های دوم و سوم در هر دو منطقه، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند، ولی بیشترین میزان کلروفیل a در برداشت اول به‌دست آمد. کمترین میزان نیز در مربوط به برداشت سوم بود (شکل ۴).

در خصوص کلروفیل b، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیل b در برهم‌کنش بوستان نسیم و برداشت اول (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان نیز در برهم‌کنش بوستان فاز چهار و برداشت

سوم (۰/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد (شکل ۵).

نتایج مشابهی برای میزان کلروفیل کل حاصل شد، به‌طوری‌که در زمان برداشت، بیشترین میزان کلروفیل در بوستان نسیم گزارش شد. همچنین، بیشترین میزان کلروفیل در برهم‌کنش بوستان نسیم و برداشت اول (۳/۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در برهم‌کنش بوستان فاز چهار و برداشت سوم (۱/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد (شکل ۶).

همانند کلروفیل‌های a و b، میزان کاروتنوئید نیز در برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین میزان کاروتنوئید در بوستان نسیم بود، هرچند نسبت به زمان برداشت تفاوت معنی‌داری نداشت. ازاین‌رو، بیشترین میزان کاروتنوئید در برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت اول (۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت سوم (۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ثبت شد (شکل ۷).

جدول ۲- تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسانس نعناو غلظت عناصر سنگین در گیاه نعنا فلفلی تحت تأثیر مکان و زمان برداشت

Table 2- ANOVA for the antioxidant enzymes, essential oil and the concentration of heavy elements in peppermint affected by location and harvest time

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square						
		کادمیوم Cadmium	سرب Lead	اسانس Essential oil	عملکرد اسانس Essential oil yield	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase
بلوک Block	2	0.007ns	3.38**	0.006ns	0.0007ns	0.0005ns	0.0003ns	0.0005ns
مکان Location (L)	1	1.280**	3793.20**	0.672**	0.0012ns	0.088**	0.0288**	0.02738**
زمان برداشت Harvest time (H)	2	0.2038**	264.48**	0.206**	0.0002ns	0.013**	0.003**	0.0153ns
L × H	2	0.316**	41.41**	0.007ns	0.0001ns	0.0001ns	0.0001ns	0.003ns
خطا Error	10	0.020	2.7	0.005	0.0003	0.0003	0.0002	0.004

**، * و ns: به‌ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند

**, * and ns: indicate significant difference at the probability level of 1%, 5% and non-significant, respectively.

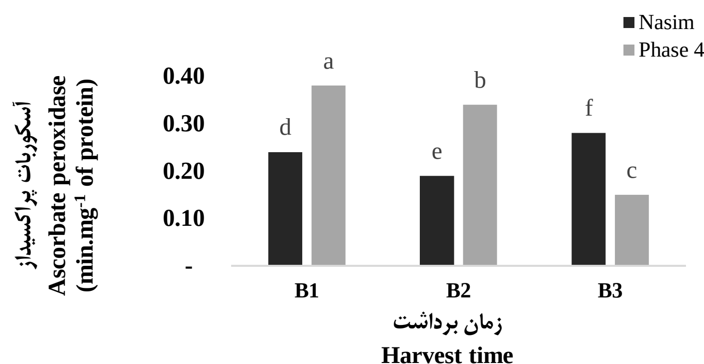
ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه نعنا فلفلی تحت تأثیر مکان و زمان برداشت

Table 2- ANOVA of physiological and biochemical traits in peppermint affected by location and harvest time, continued

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	پرولین Proline	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll
بلوک Block	2	0.000004ns	0.261ns	0.221ns	0.002ns	0.0004ns	5.99ns	0.003ns
مکان Location (L)	1	0.0598**	68.44**	41.40**	1.0804**	0.1352**	0.080**	2.85**
زمان برداشت Harvest time (H)	2	0.0025**	4.46**	3.88**	0.0760**	0.0469**	0.005**	0.318**
مکان × زمان L× H	2	0.0004**	3.78**	1.62*	0.0004ns	0.0003ns	0.0015ns	0.232ns
خطا Error	10	0.0007	3.176	0.26	0.0048	0.0015	0.0005	0.009

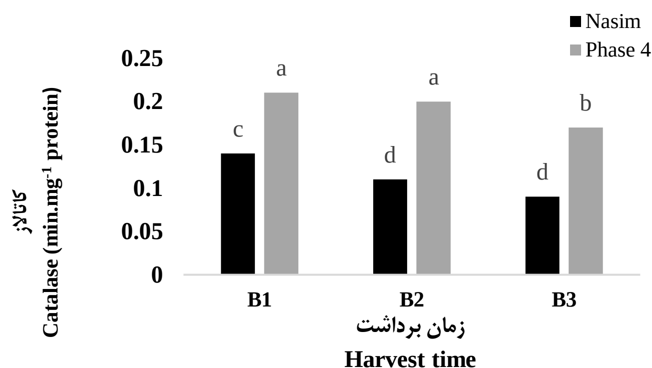
**، * و ns: به‌ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند

**, * and ns: indicate significant difference at the probability level of 1%, 5% and non-significant, respectively.



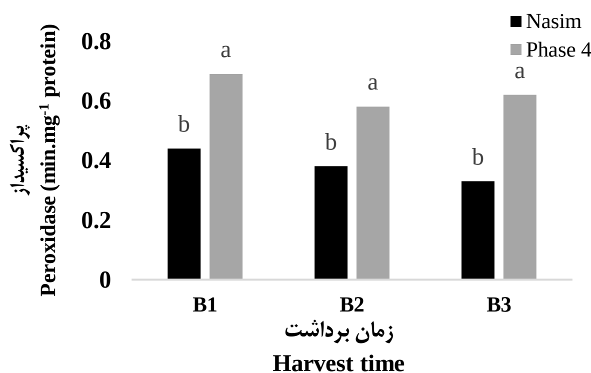
شکل ۱- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت(B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز نعنا فلفلی

Figure 1- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the activity of ascorbate peroxidase enzyme of peppermint (LSD, P≤0.05)



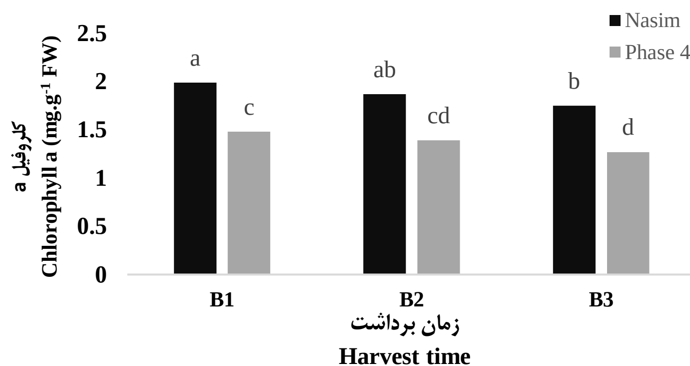
شکل ۲- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر فعالیت آنزیم کاتالاز نعنا فلفلی

Figure 2- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the catalase enzyme activity of peppermint (LSD, P≤0.05)



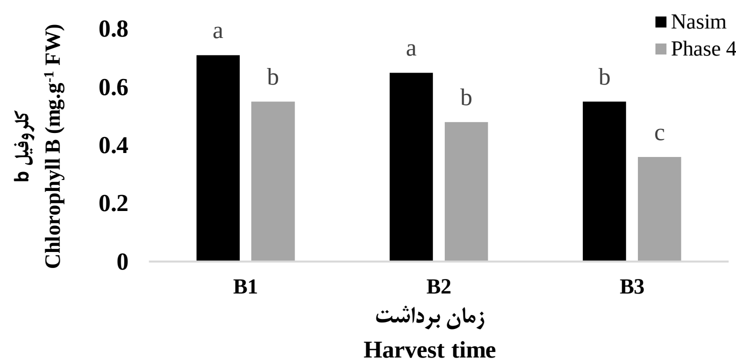
شکل ۳- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نعنا فلفلی

Figure 3- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the peroxidase enzyme activity of peppermint (LSD, P≤0.05)



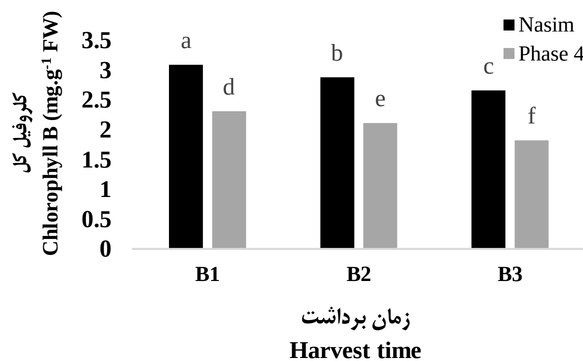
شکل ٤- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کلروفیل a نعنا فلفلی

Figure 4- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the chlorophyll a content of peppermint (LSD, P≤0.05)



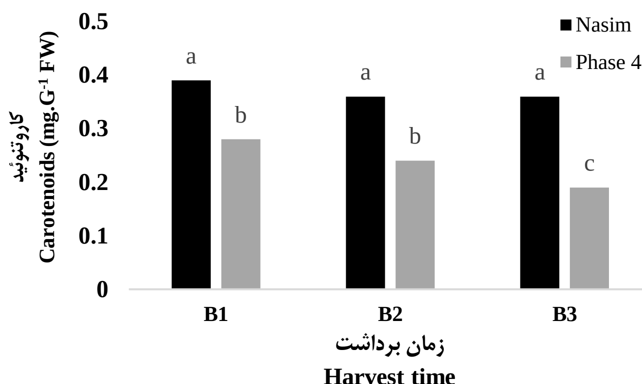
شکل ٥- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کلروفیل b نعنا فلفلی

Figure 5- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the chlorophyll b content of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ٦- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کلروفیل کل نعنا فلفلی

Figure 6- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the total chlorophyll of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ۷- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کاروتنوئید نعنا فلفلی

Figure 7- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest level (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on carotenoid content of peppermint (LSD, P≤0.05)

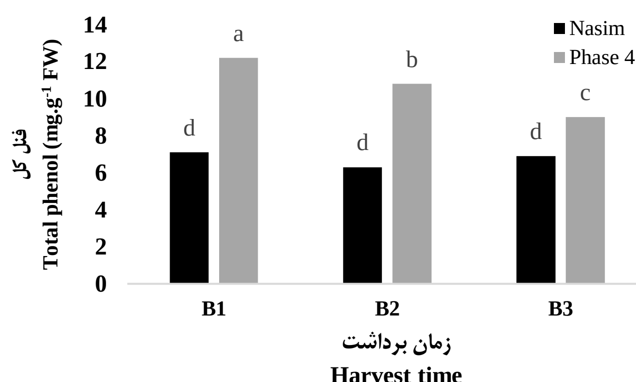
کلروفیل جزء مهمی از رنگدانه‌های فتوسنتزی است که محتوای آن در تاج گیاهان، ارتباط نزدیکی با فتوسنتز، میزان عناصر غذایی و بهره‌وری محصول دارد (Mandal & Dutta, 2020). بیشتر بودن میزان کلروفیل و کارتنوئید در برداشت اول به‌دلیل بهینه بودن شرایط رشدی از قبیل طول روز و تابش آفتاب، دمای محیط و غیره و همچنین زیاد بودن طول دوره رشدی گیاه در برداشت اول نسبت به برداشت دوم است (Amani Machiani *et al*., 2017). امانی ماچیانی و همکاران (Amani Machiani *et al*., 2021) نیز بیشتر بودن رنگدانه‌های فتوسنتزی را در برداشت اول در گیاه آویشن باغی نسبت به برداشت دوم گزارش دادند. محتوای کلروفیل به‌عنوان شاخصی از سیستم فتوسنتزی و همچنین استحکام گیاه می‌تواند پاسخ‌هایی را نسبت به کیفیت خاک ارائه دهد. بااین‌حال، فلزات سنگین می‌توانند منجر به آسیب سیستم فتوسنتزی شوند (Nigam *et al*., 2019). محققان در آزمایشی بیان کردند که گیاه نعنا فلفلی پس از سه ماه قرار گرفتن در معرض عناصر آرسنیک، کادمیم، نیکل و سرب اثرات فیتوتوکسیک رخ داد، و به عبارتی، کلروز و ریزش برگ در گیاه صورت گرفت (Dinu *et al*., 2021). در گیاهان دارویی، فلزات می‌توانند با جذب عناصر پرمصرف توسط گیاه، رقابت کنند، بنابراین منجر به کمبود عناصر مغذی پرمصرف و به دنبال آن کلروز، تغییر رشد و نکروز برگ شوند. کاهش غلظت کلروفیل تحت تنش فلز سنگین، می‌تواند به‌دلیل جایگزینی یون فلز سنگین به‌جای منیزیوم (اتم مرکزی کلروفیل) باشد. مشخص شده است که کاروتنوئید نسبت به کلروفیل حساسیت کمتری به فلزات سنگین کمتر دارد و در ترکیب با فلزات سنگین، کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در تحقیقی با هدف بررسی اثرات تخریبی نیترات سرب بر میزان کاروتنوئید در جلبک *انتروموفرا* (*Entromorpha intestinalis*) مشاهده شد که محتوای کاروتنوئید با افزایش غلظت نیترات سرب، افزایش می‌یابد (Biyok *et al*., 2022).

صفات بیوشیمیایی

مطابق شکل ۸، بیشترین میزان فنل کل در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۱۲/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد. همچنین در بوستان نسیم برای هر سه برداشت، از نظر میزان فنل تفاوت معنی‌داری نداشتند. بااین‌حال، کمترین میزان فنل کل نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت دوم (۶/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد. ترکیبات فنلی در سیستم دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارای نقش مهمی می‌باشند (Ghasemi Pirbalouti *et al*., 2014) و قادر به مهار نمودن پراکسیداسیون لیپید بوده و تحت تنش‌های مختلف، انواع مختلف اکسیژن فعال را از بین می‌برند (Zhang *et al*., 2021). افزایش میزان فنل کل در برداشت اول را می‌توان به بالا بودن دمای هوا در زمان برداشت اول و بنابراین، ایجاد شرایط تنش‌زا در این مرحله مرتبط دانست، درحالی‌که در برداشت‌های بعدی هوا به‌سمت خنک شدن و بنابراین کاهش میزان فنل می‌گردد. نتایج آزمایش فرسرایی و مقدم (Farsaraei & Moghaddam, 2020) نیز افزایش میزان فنل کل را در برداشت اول در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) نشان داد. در تحقیق کاوسی و بارنده (Kavousi & Barandeh, 2016) مشاهده شد که با افزایش غلظت کادمیوم، میزان فنل کل در عدس افزایش یافت.

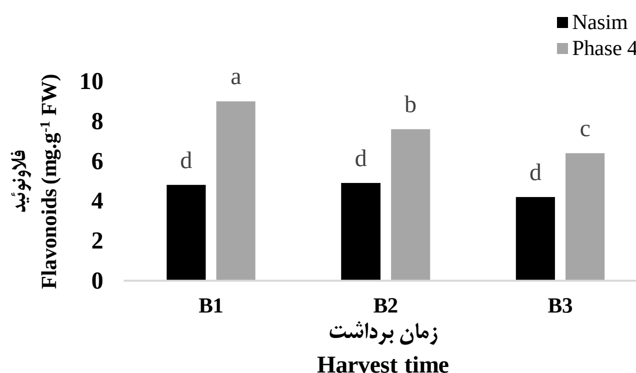
مشابه با فنل کل، بیشترین میزان فلاونوئید در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (نه میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد. همچنین در بوستان نسیم برای هر سه برداشت، از نظر میزان فلاونوئید تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان فلاونوئید نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۴/۲۰ میلی‌گرم بر گرم

وزن تر) حاصل شد (شکل ۹). ال-لیتی و همکاران (EL-Leithy *et al*., 2017) بیشترین میزان محتوای فلاونوئید کل در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) را در برداشت اول گزارش دادند که دلیل آن را شرایط بهتر آب‌وهوایی در این زمان نسبت به برداشت دوم عنوان کردند. فلاونوئیدها هم به‌عنوان عوامل آنتی‌اکسیدان و هم به‌عنوان ترکیبات کلاته‌کننده فلزات، نقش مهمی در ایجاد تحمل نسبت به تنش فلزات سنگین در گیاهان به عهده دارند (Korkina, 2007). افزایش محتوای فلاونوئید کل در اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌های یونجه (*Medicago sativa* L.) در پاسخ به تنش سرب، نشان‌دهنده نقش این ترکیب در افزایش تحمل به تنش سرب می‌باشد (Ghlich *et al*., 2015).



شکل ۸- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) ×زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای فنل کل نعنا فلفلی

Figure 8- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the total phenol content of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ۹- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت(B1 : ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای فلاونوئید نعنا فلفلی

Figure 9- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on flavonoid content of peppermint (LSD, P≤0.05)

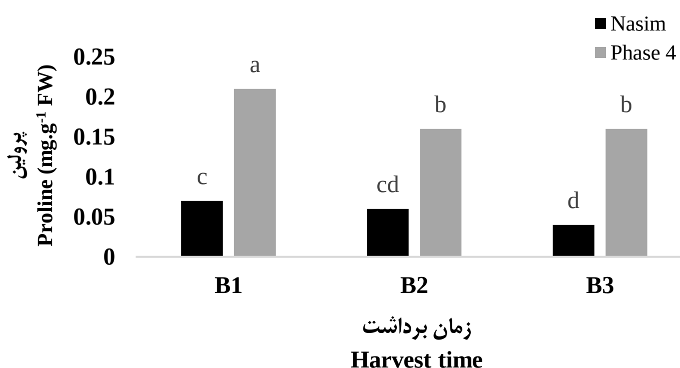
با توجه به شکل ۱۰، بیشترین و کمترین میزان پرولین به‌ترتیب در برداشت اول + بوستان فاز چهار (۰/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و برداشت سوم + بوستان نسیم (۰/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. هرچند در هر دو مکان، برداشت دوم و سوم تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند؛ امّا به‌طور کلی، بیشترین میزان پرولین در برداشت اول به‌دست آمد. پرولین به‌عنوان یک محافظ شیمیایی باعث پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها شده و کلات‌کننده فلزات است و از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند و باعث حفظ تمامیت غشاء می‌شود. بنابراین، در هنگام تنش فلزات سنگین، تولید پرولین افزایش می‌یابد تا گیاه را در مقابل سمیت حفظ نماید (Liang *et al*., 2013). پرولین در اندام-های هوایی گیاه تجمع می‌یابد و هرچه‌قدر که این اندام‌ها طول عمر و رشد بیشتری داشته باشند، میزان پرولین افزایش می‌یابد (Hosseinifard *et al*., 2022). با توجه به اینکه هنگام برداشت اول میزان رشد گیاه بیشتر است، بنابراین بیشتر بودن میزان پرولین در

برداشت اول قابل انتظار است. از طرفی، به‌دلیل اینکه در برداشت اول دمای هوا بیشتر از سایر برداشت‌ها است وگیاه در این شرایط، تنش بیشتری را احساس می‌کند و بعد از آن هوا به‌سمت خنک شدن پیش می‌رود، افزایش میزان پرولین در این برداشت توجیه‌پذیر است. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج زید و همکاران (Zaid *et al.*, 2020) در نعنا (*Mentha arvensis* L.) و عظیمی چتابی و همکاران (Azimychetabi *et al.*, 2021) در نعنا فلفلی و همچنین کاووسی و بارنده (Kavousi & Barandeh, 2016) در عدس مطابقت داشت.

درصد و عملکرد اسانس

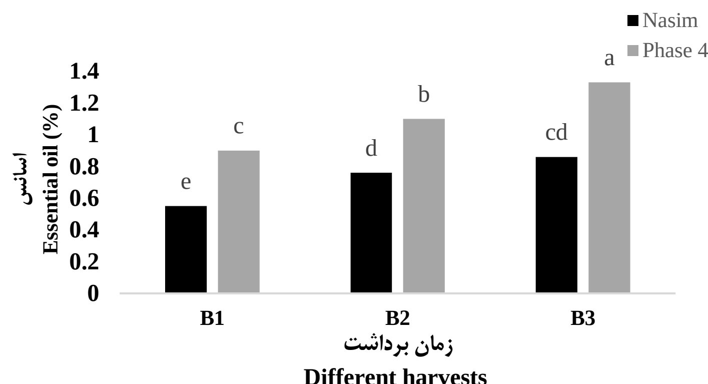
درصد اسانس در برداشت سوم برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود. به‌طور کلی، بیشترین درصد اسانس در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت سوم (۱/۳۳ درصد) به‌دست آمد. کمترین درصد اسانس نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم و برداشت اول (۰/۵۵ درصد) حاصل شد (شکل ۱۱). زمان برداشت در گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مدیریتی، نقش بسیار ارزنده‌ای در افزایش کمیت و کیفیت تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد (Khakpour *et al.*, 2020). به‌طور کلی، میزان اسانس نعنا فلفلی تحت تأثیر عوامل محیطی مانند نور، دما، روشنایی و عوامل زراعی مانند تیمارهای خاکی، مواد غذایی و یا عناصر کم‌مصرف قرار می‌گیرد (Zheljazkov *et al.*, 2006). نعنا فلفلی یک گیاه روزبلند است و طبق نظر محققان طی روزهای گرم و بلند به‌دلیل رشد و فتوسنتز بیشتر، حداکثر میزان اسانس را تولید می‌کند (Zeinali *et al.*, 2014). همچنین بیشترین میزان اسانس این گیاه در برگ‌ها تولید می‌شود و میزان تولید اسانس در این گیاه به‌شدت به عملکرد برگ بستگی دارد. به نظر می‌رسد که در برداشت سوم، برگ‌های گیاه به‌دلیل اینکه فرصت کافی برای رشد نداشته‌اند، دارای سطح کمتری بوده و درصد اسانس به‌ازای واحد سطح کمتر، عدد بزرگ‌تری نشان داد. بیشتر بودن درصد اسانس در فاز چهار می‌تواند به‌دلیل رشد کمتر برگ‌ها ناشی از وجود عناصر سنگین بیشتر در این منطقه باشد. در واقع، با کاهش سطح برگ در این منطقه به‌ازای واحد سطح کمتر، درصد اسانس بیشتری حاصل شد.

نتایج نشان داد که بوستان نسیم و فاز چهار از نظر عملکرد اسانس تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. بیشترین و کمترین عملکرد اسانس به‌ترتیب در فاز چهار + برداشت دوم و سوم (۰/۱۶ گرم) و بوستان نسیم + برداشت اول (۰/۱۳ گرم) به‌دست آمد (شکل ۱۲). به‌علت اینکه عملکرد اسانس تابع عملکرد ماده خشک گیاه می‌باشد (Czepak, 1998)، با کاهش عملکرد در مناطقی که دارای آلودگی زیادی هستند، میزان عملکرد اسانس نیز می‌تواند کاهش یابد. ترپنوئیدهای سنتز شده در غده‌های اپیدرمی گیاه نعنا فلفلی مصرف‌کننده کربنی می‌باشند که از طریق فتوسنتز تأمین می‌شود (Croteau & Johnson, 1984). در نتیجه، سنتز اسانس درغده‌های اپیدرمی تابع تأمین مداوم کربن فتوسنتزی است و اختلال در تغذیه کربن توسط عناصر سنگین می‌تواند باعث کاهش مقدار اسانس شود (Srivastava & Luthra, 1994). محققان گزارش دادند که سرب (۵۰-۵ میلی‌گرم در لیتر) می‌تواند باعث علائم قابل مشاهده سمیت شود که باعث آسیب به ساختارهای سلولی، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و تغییر ترکیب اسانس‌ها شود (Hu *et al.*, 2007). در مقابل، بیان شد زمانی‌که نعنا در معرض سرب و کروم قرار می‌گیرد، می‌تواند عملکرد اسانس و زیست‌توده خود را بهبود بخشد (Kumar *et al.*, 2009).



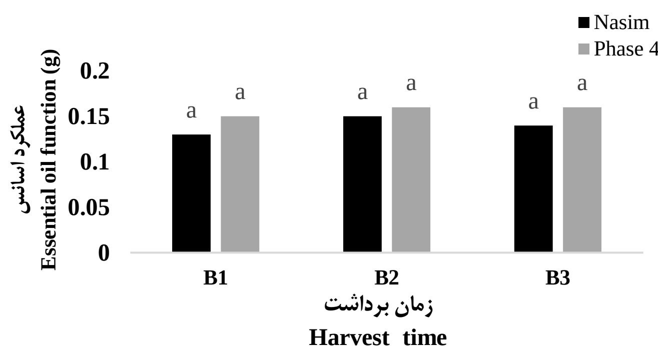
شکل ۱۰- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای پرولین نعنا فلفلی

Figure 10- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on proline content of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ۱۱- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر درصد اسانس نعنا فلفلی

Figure 11- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on essential oil percentage of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ۱۲- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر عملکرد اسانس نعنا فلفلی

Figure 12- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the essential oil yield of peppermint (LSD, P≤0.05)

غلظت سرب و کادمیوم در گیاه

در خصوص مقادیر فلزات سنگین، نتایج نشان داد که عنصر سرب در برداشت اول برای هر دو مکان، دارای بیشترین میزان بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین میزان کادمیوم در بوستان فاز چهار گزارش شد، هرچند در برداشت دوم و سوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به‌طور کلی، بیشترین میزان سرب در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۵۵/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۱۱/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ثبت شد (شکل ۱۳).

در مطالعه‌ای مشاهده شد که غلظت سرب در اندام‌های هوایی *Erigeron annuus* قبل از برداشت بیشتر از زمان برداشت آن‌ها بود و با افزایش دفعات برداشت از میزان این عنصر در اندام‌های هوایی گیاه کاسته شد (Pliszko *et al.*, 2020). دلیل آن را می‌توان عدم وجود زمان کافی احیای گیاه و جذب بیشتر عناصر دانست. از طرفی، با توجه به اینکه در برداشت اول، میزان رشد گیاه بیشتر از سایر برداشت‌ها است، میزان جذب سرب نیز بیشتر صورت می‌گیرد. محققان بیان کردند که غلظت فلزات سنگین در گیاهان دارویی به محیط رشد و همچنین نوع گونه گیاهی بستگی دارد (Maleki *et al.*, 2017). ازاین‌رو، بیشتر بودن میزان آلودگی در فاز چهار، افزایش میزان سرب در گیاهان این منطقه را توجیه می‌کند. در بررسی دیگری، محققان گزارش دادند که کاربرد آب‌های آلوده به عناصر سنگین منجر به افزایش مقدار فلزات سنگین کادمیوم و سرب در خاک گردید و با افزایش این عناصر در خاک، جذب آن‌ها توسط رازیانه (*Foeniculum vulgare*) افزایش یافت (Merrikhpour & Izadifar, 2016).

در خصوص عنصر کادمیوم نیز نتایج مشابه با سرب به‌دست آمد، به‌طوری‌که بیشترین میزان کادمیوم در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۱/۰۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان در

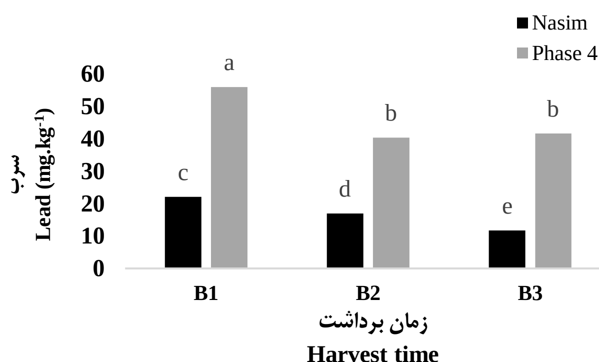
برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) حاصل شد (شکل ١٤). به نظر می‌رسد که در برداشت اول با رشد بیشتر گیاه، تجمع کادمیوم در گیاه افزایش می‌یابد. اوآنسیا و همکاران (Oancea *et al*., 2005) گزارش نمودند که با افزایش غلظت فلزات سنگین در محیط کشت بر غلظت آن‌ها در گیاه افزوده می‌شود. حضور کادمیم منجر به کاهش سرعت رشد، تبخیر و تعرق و جذب یون توسط گیاه شده و با کاهش جذب آب و غلظت سایر یون‌ها، مانع از انجام فعالیت ریشه می‌گردد (Rizwan *et al*., 2016; Naeem *et al*., 2016). گزارش شده است که با افزایش وزن خشک گیاه، غلظت کادمیوم در بافت‌های گیاهی خرفه (*Portulaca eoleracea*) افزایش یافت (Fallah *et al*., 2016). با توجه به آلودگی بیشتر فاز چهار نسبت به سایر مناطق، تجمع بیشتر فلزات سنگین در بافت‌های گیاهی در این منطقه قابل انتظار است. همچنین در گزارش دیگری مشاهده شد که با افزایش غلظت کادمیوم، میزان تجمع این فلز در اندام هوایی گیاهان یونجه به‌میزان چشمگیری افزایش یافت (Aghaei *et al*., 2021).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که زمان برداشت در مناطق مختلف با درجه آلودگی متفاوت، بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه نعنا تأثیر داشت، به‌صورتی‌که در بوستان کلانتری فاز چهار با میزان بیشترآلودگی به سرب و کادمیوم نسبت به بوستان نسیم، اکثر صفات ناشی از تنش فلزات سنگین مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتویات فنلی و همچنین درصد اسانس، مقادیر بالاتری نشان دادند. از طرف دیگر، در بوستان نسیم نیز به‌دلیل اثرات کمتر تنش فلزات سنگین، میزان محتویات کلروفیلی بیشتری دیده شد. در مورد میزان سرب و کادمیوم جذب شده توسط گیاه، این مقدار در بوستان کلانتری فاز چهار از بوستان نسیم بیشتر بود، که خود باعث کاهش خصوصیات رشدی گیاه نعنا فلفلی شد. همچنین در برداشت اول به‌دلیل قدرت بالاتر گیاهچه و خصوصیات رشدی بهتر، جذب فلزات سنگین بیشتری ثبت شد، درحالی‌که در برداشت سوم، به‌دلیل صرف انرژی بیشتر برای رشد مجدد، دارای خصوصیات رشدی کمتر و جذب ضعیف‌تر فلزات سرب و کادمیوم بود. در مورد مصرف خوراکی محصول تولیدی نیز با توجه به اینکه میزان غلظت سرب و کادمیوم تجمع یافته در برگ‌های نعنا فلفلی در هر دو مکان بیشتر از استاندارد بهداشت جهانی WHO(سرب (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کادمیوم (۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم)) بود، مصرف آن توصیه نمی‌شود.

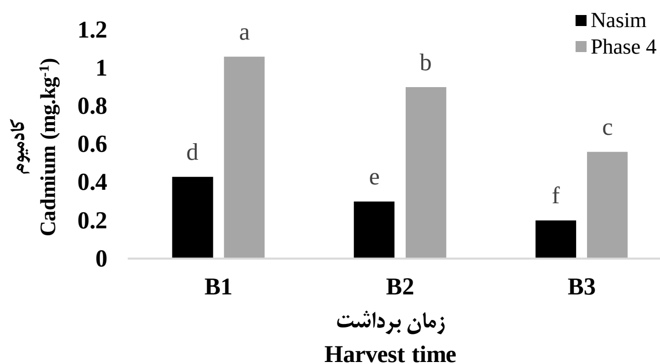
سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی و شهرداری منطقه نُه مشهد انجام شد. بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد سپاسگزاری می‌گردد.



شکل ۱۳- اثرمتقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر غلظت سرب نعنا فلفلی

Figure 13- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the concentration of Lead of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ١٤- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1 : ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر غلظت کادمیوم نعنا فلفلی

Figure 14- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the concentration of Cadmium of peppermint (LSD, P≤0.05)

References

1- Aghaei, K., Bouryaei, M., & Zamani, A. (2021). Study of cadmium contamination and its effects on some physiological and nutritional characteristics of alfalfa plants. *Environmental Sciences*, *18*(4), 109-124. (In Persian). https://doi.org/10.52547/envs.18.4.109

2- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Ostadi, A., & Morshedloo, M.R. (2021). Evaluation of Essential Oil Yield and Ecological Indices in the Intercropping of thyme (Thymus vulgaris L.) and soybean (Glycine max L.) with Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *Sustainable Agriculture and Production science*, *31*(3), 32-50. (In Persian). https://doi.org/10.22034/saps.2021.13687

3- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Nasiri, Y., & Morshedloo, M. (2017). Advantage of peppermint (*Mentha piperita* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) intercropping in different cropping patterns. *Sustainable Agriculture and Production science*, *27*(3), 45-62. https://doaj.org/article/3a4de7de93124f1ba4125671d446ace3

4- Antisari, L.V., Orsini, F., Marchetti, L., Vianello, G., & Gianquinto, G. (2015). Heavy metal accumulation in vegetables grown in urban gardens. *Agronomy for Sustainable Development*, *35*, 1139–1147. https://doi.org/10.1007/s13593-015-0308-z

5- Arnon, D.I., (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in: (*Beta vulgaris*). *Journal of Plant Physiology*, *24*, 1–15. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1

6- Azimychetabi, Z., Sabokdast Nodehi, M., Moghadam, T., & Motesharezadeh, B. (2021). Cadmium stress alters the essential oil composition and the expression of genes involved in their synthesis in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Industrial Crops and Products*, *168*(15), 113602. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113602

7- Bates, L.S., Waldran, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Plant Soil*, *39*, 205–208. https://doi.org/10.1007/BF00018060

8- Biyok, B., Soltani, S., & Hashemi, A.S. (2022). Investigation of heavy metal (Pb^{+}) effect in presence of (Ca^{2+}) on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes activity of *Entromorpha* sp. *Journal of Plant Environmental Physiology*, *68*(4), 55-68. (in Persian). https://doi.org/10.30495/iper.2022.688799

9- Çatav, Ş.S., Genç, T.O., Oktay, M.K., & Küçükakyüz, K. (2020). Cadmium toxicity in wheat: Impacts on element contents, antioxidant enzyme activities, oxidative stress, and genotoxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *104*, 71–77. https://doi.org/10.1007/s00128-019-02745-4

10- Croteau, R., & Johnson, M.A. (1984). Biosynthesis of terpenoids in glandular trichomes. *Chemistry of Plant Trichomes*, 133-185. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-5355-1_7

11- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

12- Czepak, M.P. (1998). Produção de óleo bruto e mentol cristal-izável em oito freqüências de colheita da menta (*Menta ar-vensis* L.). *Science Botucatu*, 53-80. https://doi.org/10.11606/D.11.1995.tde-20231122-100730

13- De Pinto, M.C., & De Gara, L. (2004). Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. *Journal of Experimental Botany*, *55*(408), 2559–2569. https://doi.org/10.1093/jxb/erh253

14- Dinu, C., Gheorghe, S., Tenea, A.G., Stoica, C., Vasile, G.G., Popescu, R.L., Serban, E.A., & Pascu, L.F. (2021). Toxic metals (As, Cd, Ni, Pb) impact in the most common medicinal plant (*Mentha piperita*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*, 3904. https://doi.org/10.3390/ijerph18083904

15- Dumont, S., & Rivoal, J. (2019). Consequences of oxidative stress on plant glycolytic and respiratory metabolism. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 166. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00166
16- Gallego, S.M. & Benavides, M.P. (2019). Cadmium-induced oxidative and nitrosative stress in plants. *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants*, 233–274. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00010-3
17- Ebrahimpour, M., & Mushrifah I. (2008). Heavy metal concentrations (Cd, Cu and Pb) in five aquatic plant species in Tasik Chini, Malaysia. *Journal of Environmental Geology*, *54*, 689–698. https://doi.org/10.1007/s00254-007-0838-z
18- EL-Leithy, A.S., EL-Hanafy, S.H., Khattab, M.E., Ahmed, S.S., & Ghafour, A. (2017). Effect of nitrogen fertilization rates, plant spacing and their interaction on essential oil percentage and total flavonoid content of summer savory (*Satureja hortensis* L.) plant. *Egyptian Journal of Chemistry*, *5*(5), 805-816. https://doi.org/10.21608/ejchem.2017.1296.1074
19- Fallah, F., Soltaninejhad, M., & Taddayon, R. (2016). Effects of cattle manure, chemical fertilizers, and their combination on cadmium accumulation and growth of purslane (*Portulaca eoleracea*). *Soil Research (Soil and Water Sciences)*, *30*(4), 1-14. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijsr.2017.109259
20- Farsaraei, S., & Moghaddam, M. (2020). Morphophysiological and biochemical responce of basil cultivar Keshkeni luveluo under salinity stress and superabsorbent polymers application. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, *33*(4), 982- 996. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1399.33.4.19.5
21- Gupta, A., Sharma, S., & Verma, N. (2019). Oxidative stress and antioxidant responses in peppermint plants exposed to heavy metals. *Plant Physiology and Biochemistry*, *25*(2), 123-136.
22- Giviand Rad, M., Sadeghi, T., Larejani, K., & Hosseini, S. (2011). Determination of heavy metals of cadmium and lead in green straw cultivated in different lands of southern Tehran. *Food Science and Nutrition*, *8*(2), 38-42. http://dx.doi.org/10.29252/arakmu.10.5.23
23- Ghasemi Pirbalouti, A., Samani, M.R., Hashemi, M., & Zeinali, H. (2014). Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant Growth Regulation*, *72*(3), 289-301. https://doi.org/10.1007/s10725-013-9860-1
24- Gill, S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016
25- Ghlich, S., Zarrin Kamar, F., & Niknam, V. (2015). Lead accumulation and it's effects on peroxidase activity, phenolic and flavonoid compounds in seedlings of *Medicago sativa* L. *Journal of Plant Research (Iran biology)*, *28*(1), 164-174. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1394.28.1.15.0
26- Hosseinifard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, L., & Garnczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*, 5186. https://doi.org/10.3390/ijms23095186
27- He, Z., Shentu, J., Yang, X., Baligar, V.C., Zhang, T.Q., & Stoffella, P.J. (2015). Heavy Metal Contamination of soils: Sources, indicators and assessment. *Journal of Environmental Indicators*, *9*, 17-18.
28- Heidary Monfared, S. (2011). Community garden heavy metal contamination study. *Environment Canada, Ecology Action Centre*, 4–20.
29- Hu, J.Z., Shi, G.X., Xu, Q.S., Wang, X., Yuan, Q.H., & Du, K.H. (2007). Effects of Pb^{2+} on the active oxygen-scavenging enzyme activities and ultrastructure in *Potamogeton crispus* leaves. *Russian Journal of Plant Physiology, 54*, 414–419. https://doi.org/10.1134/S1021443707030181
30- Irfan, M., Ahmad, A., & Hayat, S. (2014). Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *21*(2), 125-131. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.08.001
31- Kavousi, H.R., & Barandeh, F. (2016). Effect of cadmium on photosynthetic pigments, proline and soluble proteins in lentil (*Lens culinaris* Medik.) seedlings. *Plant Process and Function*, *5*(16), 117-132. (In Persian). http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1395.5.16.9.4
32- Khakpour, A., Zolfaghari, M., & Sorkheh, K. (2020). A study on some secondary metabolites of *Glycyrrhiza glabra* L. in autumn and spring conditions in Khuzestan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *35*(6), 991-1000. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2020.125165.2496
33- Kumar, N.J.I., Soni, H., Kumar, R.N., & Bhatt, I. (2009). Hyperaccumulation and mobility of heavy metals in vegetable crops in India. *Journal of Agriculture and Environment*, *10*, 34–45.
34- Korkina, L.G. (2007). Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: From plant defense to human health. *Cellular and Molecular Biology*, *53*, 15-25. http://dx.doi.org/10.3126/aej.v10i0.2128
35- La Greca, P., La Rosa, D., Martinico, F., & Privitera, R. (2011). Agricultural and green infrastructures: The role of non-urbanised areas for ecosustainable planning in a metropolitan region. *Environmental Pollution*, *159*, 2193–2202. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.11.017

36- Leake, J., Adam-Bradford, A., & Rigby, J. (2009). Health benefits of ‘grow your own’ food in urban areas: implications for contaminated land risk assessment and risk management? *Environmental Health*, *8*, S6. https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-S1-S6
37- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K., & Becker, D.F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. Redox Signal*, *19*, 998–1011. https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074
38- Mandal, R., & Dutta, G. (2020). From photosynthesis to biosensing: Chlorophyll proves to be a versatile molecule. *Sensors International*, *1*, 100058. https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100058
39- Maleki, M., Ghorbanpour, M., & Kariman, K. (2017). Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene*, *11*, 247-254. https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.006
40- Merrikhpour, H., & Izadifar, S. (2016). *Investigating the concentration of heavy elements in fennel plant under irrigation with water contaminated with lead and cadmium*. National Conference of Aromatic Medicinal Plants and Spices, 1-5. (In Persian)
41- Mishra, B., Sangwan, R.S., Mishra, S., Jadaun, J.S., Sabir, F., & Sangwan, N.S. (2014). Effect of cadmium stress on inductive enzymatic and nonenzymatic responses of ROS and sugar metabolism in multiple shoot cultures of Ashwagandha (*Withania somnifera* Dunal). *Protoplasma*, *251*(5), 1031-1045. https://doi.org/10.1007/s00709-014-0613-4
42- Montaño López, F., & Biswas, A. (2021). Are heavy metals in urban garden soils linked to vulnerable populations? A case study from Guelph, Canada. *Scientific Reports*, *11*, 11286. https://doi.org/10.1038/s41598-021-90368-3
43- McKay, D.L., & Bumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, *20*, 619-633. https://doi.org/10.1002/ptr.1936
44- Naeem, A., Saifullah, Rehman, M.Z., Akhtar, T., Yong, S.O., & Rengel, Z. (2016). Genetic variation in cadmium accumulation and tolerance among wheat cultivars at the seedling stage. *Communications in Soil Science and Plant*, *47*(5), 554-562. https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1141918
45- Nigam, N., Khare, P., Yadav, V., Mishra, D., Jain, S., Karak, T., Panja, S., & Tandon, S. (2019). Biochar-mediated sequestration of Pb and Cd leads to enhanced productivity in *Mentha arvensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *172*, 411-422. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.006
46- Oancea, S., Foca, N., & Airinei, A. (2005). Effects of heavy metals on plant growth and photosynthetic activity. *Analele Ştiinţifice ale Universităţii .AL. I. CUZA1 IAŞI*, 107–110.
47- Osman, K.T. (2018). Polluted Soils. In: Management of Soil Problems. *Springer*, *Cham*. 333- 408. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75527-4_12
48- Pahlavan Rad, M., Keykha, G., Dahmardeh, K. & Moghaddam, A. (2009). *The effect of using different sources of green manure in rotation with wheat on soil properties and wheat yield*. 11th Soil Science Congress of Iran, 11, 934-936. (In Persian)
49- Pliszko, A., Klimek, B., & Kostrakiewicz-Gierałt, K. (2020). Effect of shoot cutting on trace metal concentration in leaves and capitula of potential phytoaccumulator, invasive *Erigeron annuus* (*Asteraceae*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *104*, 668–672. https://doi.org/10.1007/s00128-020-02844-7
50- Rajput, V.D., Harish, Singh, R.K., Verma, K.K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F.R., Meena, M., Gour, V.S., Minkina, T., Sushkova, S., & Mandzhieva, S. (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, *10*, 267. https://doi.org/10.3390/biology10040267
51- Rizwan, M., Meunier, J.D., Davidian, J.C., Pokrovsky, O.S., Bovet, N., & Keller, C. (2016) Silicon alleviates Cd stress of wheat seedlings (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio) grown in hydroponics. *Environmental Science and Pollution Research International*, *23*, 1414–1427. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5351-4
52- Sarwar, N., Saifullah, Malhi, S.S., Zia, M.H., Naeem, A., Bibi, S., & Farid, G. (2010). Role of plant nutrients in minimizing cadmium accumulation by plant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*, 925-937. https://doi.org/10.1002/jsfa.3916
53- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M.R., Ishaque, W., Kamran, M.A., Matloob, A., Rehim, A., & Hussain, S. (2017). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 710-721. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.116
54- Srinivas, N.D., Rashmi, K.R. & Raghavarao. K.S.M.S. (1999). Extraction and purification of a plant peroxidase by aqueous two-phase extraction coupled with gel filtration. *Process Biochemistry*, *35*, 43–48. https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00030-8
55- Srivastava, N.K., & Luthra, R. (1994). Relationship between photosynthetic carbon metabolism and essential oil biogenesis in peppermint under Mn stress. *Journal of Experimental Botany*, *45*, 1127-1132. https://doi.org/10.1093/jxb/45.8.1127
56- Singleton, U.L., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-posphotungustic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*, 144–158. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144

57- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152–178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1
58- United Nations. (2018). Department of Economic and Social Afairs, P. D. World Urbanization Prospects: Te 2018 Revision. *World Urbanization Prospects*, the 2018 Revision. https://www.un.org/en/desa/2018-revision-world-urbanization-prospects
59- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid raintreated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, *151*, 59-66. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1
60- Yamaguchi, K., Mori, H., & Nishimura, M. (1995). A novel isoenzyme of ascorbate peroxidase localized on glyoxysomal leaf peroxisomal membranes in pumpkin. *Plant Cell Physiology*, *36*, 1157–1162. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078862
61- Zaid, A., Mohammad, F., & Fariduddin, Q. (2020). Plant growth regulators improve growth, photosynthesis, mineral nutrient and antioxidant system under cadmium stress in menthol mint (*Mentha arvensis* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants: An International Journal of Functional Plant Biology*, *26*, 25–39. https://doi.org/10.1007/s12298-019-00715-y
62- Zeinali, H., Hosseini, H., & Shirzadi, M.H. (2014). Effects of nitrogen fertilizer and harvest time on agronomy, essential oil and menthol of *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *30*(3), 486-495. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2014.7684
63- Zhang, H., Troise, A.D., Qi, Y., Wu, G., Zhang, H., & Fogliano, V. (2021). Insoluble dietary fibre scavenges reactive carbonyl species under simulated physiological conditions: The key role of fibre-bound polyphenols. *Food Chemistry*, *349*, 129018. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129018
64- Zheljazkov, V.D., Craker, L.E., & Xing, B. (2006). Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. *Environmental and Experimental Botany*, *58*, 9–16. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.06.008
65- Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H., & Zhang, J. (2021). Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of sassafras seedlings. *Scientific Reports*, *11*(1), 9913. https://doi.org/10.1038/s41598-021-89322-0